

자외선에 의해 피부가 손상된 hairless mouse에서의 hydroxyproline, Pro-Hyp 경구반복투여시 피부 상태 개선 효과

이지해 · 서정혜¹ · 박영호 · 김완기¹ · 임경민 · 이상준^{1*}

(주)아모레퍼시픽 기술연구원 의약품연구소, ¹식품연구소

The Effect of Hydroxyproline and Pro-Hyp Dipeptide on UV-damaged Skin of Hairless Mice

Ji-Hae Lee, Jeong-Hye Seo¹, Young-Ho Park, Wan-Gi Kim¹, Kyung-Min Lim, and Sang-Jun Lee^{1*}

Pharmaceutical Research Institute and ¹Food Research Institute, AmorePacific Corporation/R&D Center

Abstract Hydroxyproline and Pro-Hyp dipeptide are the digestive products of collagen hydrolysate called collagen peptide. Some suggested that collagen peptides could improve aged or damaged skins, however, the effects of collagen peptides on the skin have not been known. In this study, we investigated the effects of digestive products of collagen peptides, hydroxyproline and Pro-Hyp dipeptide on skin quality using the UV-damaged dorsal skin of hairless mouse as a model system. Female SKH hairless mice were pre-irradiated with UV for 7 weeks, and then hydroxyproline, Pro-Hyp dipeptide were orally administered for 7 weeks with UV irradiation. Wrinkle formation (by replica image), skin elasticity, barrier status (by TEWL, transepidermal water loss), epidermis thickness, and biophysical changes in the stratum corneum (by hematoxylin & eosin staining) were examined. With the oral peptide treatment, effects such as skin barrier maintenance, anti-skin thickening, and recovery of the stratum corneum were observed. These results indicate that oral intake of collagen peptides may have beneficial effects on damaged skin cells.

Key words: collagen peptide, hydroxyproline, Pro-Hyp, ultraviolet (UV), photoaging

서 론

콜라겐은 척추 동물의 체내에 가장 풍부하게 존재하는 단백질이며, 피부, 뼈, 근육 등 모든 결합 조직의 구성 성분이다. 피부 조직에 있어서 콜라겐은 진피층의 세포 간 기질(extracellular matrix)을 채우고 있으며, 노화에 의한 주름 생성 및 탄력 저하 등 피부 상태와 밀접한 관련이 있다.

콜라겐은 피부 탄력과 보습력을 높이는 작용으로 오래 전부터 피부 미용의 목적으로 화장품 원료로 사용되어 왔다. 또한 화장품뿐만 아니라 콜라겐의 경구 섭취가 머리카락 및 손톱, 발톱을 강화하고 윤택하게 만들어 준다고 알려져 있으며, 최근에는 관절이나 뼈에 미치는 콜라겐의 작용에 대해 검증하는 연구들이 수행되고 있으나(1-3), 아직까지 콜라겐과 관련된 다양한 효능을 과학적으로 검증한 신뢰성 있는 clinical data가 부족한 상황이다.

콜라겐 소재는 화장품보다 피부과 시술로 더 유명한데, 이들과 같은 목적으로, 먹는 콜라겐이 일본과 유럽 등지에서 발매되고 국내에도 도입되어 수입 콜라겐 및 국산 제품들이 유통되고 있다.

먹는 콜라겐이 사람들의 주의를 끌게 되면서 콜라겐 식품의 생

체 흡수 여부와 효능에 대한 논란이 일어나게 되었다. 고분자 단 백질인 콜라겐을 섭취하여도 장에서 흡수가 거의 되지 않아 아무 작용도 하지 않을 것이라는 주장이 제기되었으나, 시중의 먹는 콜라겐 제품들은 돈피, 어류의 비늘 등으로부터 고분자 콜라겐을 추출한 다음 이를 가수분해시켜 펩타이드 형태로 저분자화시킨 것이며, 분자 크기 30만 정도의 고분자를 작게는 1000~5000 정도까지 낮춘 콜라겐 제품들이 시판되고 있다.

‘콜라겐 펩타이드’라는 명칭으로 불리는 콜라겐(또는 젤라틴) 가수분해물의 흡수 및 생체 작용에 대한 연구들이 근래에 지속적으로 수행되어 왔다. 콜라겐 펩타이드를 섭취 후 사람의 혈중에 나타나는 소화분해산물을 분석한 연구에서(4,5), 콜라겐을 구성하는 glycine, proline, hydroxyproline, alanine, arginine 등의 유리 아미노산 뿐만 아니라 Pro-Hyp, Leu-Hyp과 같은 dipeptide와 Ala-Hyp-Gly, Pro-Hyp-Gly과 같은 tripeptide의 형태로도 소화기관을 통해 혈액까지 도달함을 보여주었다. 콜라겐을 구성하는 주요 아미노산 중 하나인 hydroxyproline은 콜라겐 특유의 2차 아미노산으로, 콜라겐 생합성 과정에서 hydroxylase에 의해 proline에 -OH기가 붙으면서 만들어지게 된다(6). 혈중에 나타나는 hydroxyproline과 같은 아미노산이나 이들이 둘 이상 결합된 펩타이드의 종류 및 조성비는 돈피, 어류 비늘 등 콜라겐의 유래에 따라 차이가 있지만, dipeptide 중에서는 Pro-Hyp이 가장 높은 비율로 검출되었다(4,5).

Hydroxyproline은 콜라겐 생합성 과정에서 3차 나선구조를 견고하게 유지하는데 필수적이며, 인체 섬유아세포 외부로 콜라겐 전구 물질을 배출하는 과정에도 필요하다.

*Corresponding author: Sang-Jun Lee, Food Research Institute, AmorePacific Corporation/R&D Center, Yongin, Gyeonggi-do 449-729, Korea

Tel: 82-31-280-5601

Fax: 82-31-285-1160

E-mail: leesjun@amorepacific.com

Received May 9, 2008; revised July 8, 2008;

accepted July 8, 2008

Hydroxyproline이 결핍 되면 콜라겐 분자들이 3차 나선 구조를 형성하지 못하며 정상적인 콜라겐 전구 물질이 세포의 공간에 존재하지 못하게 되어 결합 조직에 결함을 가져오게 된다(7,8). 이러한 hydroxyproline은 콜라겐에만 특징적으로 다량 함유되어 있으므로 의학계에서는 결합조직 관련 질환의 생체 콜라겐 분해 지표로 쓰고 있고, 화장품에서는 보습 작용과 항노화 기능성을 요구하는 제품에 활용되고 있다.

Pro-Hyp은 인간섬유아세포와 말초 혈액의 중성구 및 단구를 대상으로 한 세포 실험에서 주화작용(chemotactic activity)을 일으켰다. 주화작용에 의한 이 세포들의 이동은 상처 치유 초기 단계에서 중요한 역할을 하는데, 이 사실은 상처 부위의 콜라겐 분해 산물로서 Pro-Hyp는 세포의 기질의 분해에 대해 생체 신호로 작용할 수 있으며, Pro-Hyp가 섬유아세포 등의 이동을 자극하여 상처 치유 과정이 일어남을 보여준다(4,9-11). 또한 콜라겐에서 유래된 Pro-Hyp와 같은 펩타이드들은 고혈압 치료에 쓰이는 안지오텐신 전환효소 억제 작용과 같은 생리학적 활성을 나타내는 것으로 보고되었다(12).

콜라겐 펩타이드를 섭취 후 생체에 흡수되는 hydroxyproline 및 Pro-Hyp과 같은 소화분해산물에 초점을 두고, 피부에 미치는 영향을 평가함으로써 먹는 콜라겐이 생체에 미치는 작용의 원리에 접근하고, 이러한 소화분해산물이 지닌 피부 미용 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다. 본 연구에서는 피부 미용 효능을 평가하는 시험법 중 하나인 hairless mouse의 광노화 모델을 적용하였는데, 이는 피부 노화의 주 원인인 자외선 조사를 통해 피부 조직에 손상을 일으키는 방법으로, 사람에서 일어나는 피부 노화와 유사하도록 고안된 동물 시험법이다(13-16). 피부 미용 소재를 경구 섭취하는 사람의 피부는 광노화 및 자연노화가 어느 정도 진행된 상태이므로, 이와 유사한 조건을 조성하기 위하여 투여 시작 전에 hairless mouse에 UV 조사를 통해 주름을 선유발시킨 다음, hydroxyproline 및 Pro-Hyp의 경구 섭취가 광노화 피부에 미치는 영향에 대하여 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 hydroxyproline(4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid), Pro-Hyp은 각각 Sigma(St. Louis, MO, USA), Bachem(Bubendorf, Switzerland)을 시험에 사용하였다. 시중에 판매되는 콜라겐 펩타이드의 1일 섭취량(5 g/50 kg/day)을 기준으로 하여, 콜라겐 펩타이드 내에 들어 있는 hydroxyproline량을 근거로 사용량을 설정하였으며, 임상 사용 예정량의 10배 농도에서 효능을 평가하고자 하였다. 실험물질의 안정성을 고려하여 주 1회 실험 물질을 조제하여 사용하였다. 음성 대조군으로는 생리식염수(Choongwae Pharma Co., Seoul, Korea)를 사용하였다.

실험동물 및 사육관리

생후 8주령된 25-30 g 정도의 SPF(specific pathogen free) 암컷 hairless mouse(Skh:HR-a)를 Charles River Laboratories(Wilmington, MA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 실험 동물들은 일주일 동안 설치류 사육실에서 적응시킨 후, 적응 기간 중 일반 상태를 관찰하여 건강하다고 판정된 동물만을 골라 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 8마리씩 4군으로 분류하여 시험에 사용하였다. 군 분리 실시 후 각 군의 평균체중에 대한 군간 차이는 Minitab을 이용해 ANOVA 검정으로 통계학적 검증을 실시하여 확인하였다. 본 실험은 온도 23±3°C, 습

Table 1. Experimental group and dose regimen

Group	UV	Test material	Amount of injection
NC	X	Saline	10 ml/kg
UC	O	Saline	10 ml/kg
UV/H	O	hydroxyproline	78 mg/10 ml/kg
UV/P	O	Pro-Hyp	156 mg//10 ml/kg

NC: normal control, UC: UV control, UV/H: UV+hydroxyproline, UV/P: UV+Pro-Hyp

도 50±5%, 소음 60 db 이하, 쥐기 20 ppm 이하, 조도 150-300 Lux, 명암주기 12시간(07:00-19:00/조명시간)으로 설정된 실험동물실에서 실시하였으며, 시험기간 중 동물은 polycarbonate cage (26×42×18 cm, 명진기계)에 cage당 8마리씩 사육하였으며, 사육 상자에는 시험번호, 동물번호 및 투여량을 기재한 tag를 붙였다. 사료는 마우스 전용사료(Purina, St. Louis, MO, USA)를 자유급여하였으며, 음수는 자외선 소독한 상수도수를 자유급여하였다. 동물의 계식별은 피모색소표시법 및 사육 상자별 tag 표시법을 이용하였다. 실험동물 사육관리는 “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”를 기준으로 하였다.

실험군

NC군(normal control), UC군(UV control), UV/H군(hydroxyproline 78 mg/kg투여), UV/P군(Pro-Hyp 156 mg/kg 투여)등 4개 군으로 나누어 실험하였다(Table 1).

실험물질 투여

NC군과 UC군은 10 ml/kg의 생리식염수를 마우스용 위관(Sonde)을 사용하여 실험동물의 위 내에 강제경구투여 하였고, 실험물질 투여군은 유의적인 효과와 독성을 함께 확인하기 위해 임상사용 예정량의 10배를 기준으로 실험물질을 10 ml/kg의 생리식염수에 용해시켜 강제경구투여 하였다. 투여기간은 총 7주로 주 5일 동일한 시간(10:00~11:00)에 투여하였다.

UV 조사

경구투여 전 7주간 UV 조사를 통해 주름을 선 유발하였고, 실험물질이 투여되는 본 실험기간에도 계속 UV 조사를 하였다. NC군을 제외한 UC군과 실험군에 매주 주 3회 동일한 시간(10:30-12:00)에 UV를 조사하였다. UV 조사를 위해 태양광과 유사하게 UV를 방출하는 UVB 램프(Waldmann UV-800, Waldmann Co., Germany) 10개를 부착하여 사용하였다. 첫째 주는 1 MED(minimal erythral dose, 약 55-60 mJ/cm²)를, 둘째 주는 2 MED, 셋째 주는 3 MED, 넷째 주부터 실험 종료시까지 4 MED를 조사하였다. 이때 UV 조사량은 Waldmann UV meter(Waldmann Lichttechnik GmbH, Waldmann Co., Germany)를 이용하여 확인하였으며, 동물의 피부 채취 시 즉각적인 UV 손상에 의한 영향을 받지 않도록 피부 채취 3일 전부터는 UV 조사는 실시하지 않았다. 주름 선유발 기간을 포함한 실험기간 중 총 UV 조사량은 129 MED였다.

임상 증상 관찰 및 체중, 사료 및 음수량 측정

본 실험 기간 동안 1일 1회 임상 증상의 변화 및 사망여부를 관찰하였다. 체중 측정은 시험에 사용된 모든 동물에 대하여 시험 시작 전, 시험기간 중 주 1회 실시하였다. 사육 상자별로 당일 사료와 음수의 급여총량과 익일 잔량을 매주 1회 측정하였다.

피부의 육안 관찰 및 피부주형의 분석(replica image analysis)

주름 개선 효과의 판정을 위해 7주간의 주름 선유발 후 군 분리시(0주) 및 4주, 7주에 피부를 육안 관찰하고 피부주형을 채취하였다. 군별로 hairless mouse의 등쪽을 디지털카메라(Model C-700, Olympus, Japan)를 이용해 근접 촬영하고, 실리콘폴리머(SILFLO impression material, Flexico, England)를 이용하여 피부주형(replica)을 채취하였다. 채취한 피부주형은 빛의 입사각을 20도로 고정된 후, 주름 그림자 명암 영상을 CCD 카메라(Model SDC-45, Samsung, Seoul, Korea)로 찍어 이미지 파일화를 하고 컴퓨터 영상분석 시스템인 Skin Visiometer SV600 software(Courage+Khazaka, Germany)를 이용하여 R1-R5의 값을 측정하였다(17-19).

피부의 탄력 측정

피부 탄력 증진 효과의 판정을 위해 Cutometer SEM 575(C&K, Köln, Germany)를 이용하여 본 실험 0주, 7주에 피부 탄력을 측정하였다(20-22).

피부의 경피 수분 손실량(TEWL: transepidermal water loss) 측정

피부의 보습 능력을 판정하기 위해 Vapometer SWL4102(Delfin Technologies Ltd., Kuopio, Finland)를 이용해 본 실험 7주차에 피부 경피 수분 손실량을 측정하였다(23-25).

조직병리학적 관찰

조직 준비를 위해 동물을 희생시킨 후 등쪽 피부를 떼어내어 (1×1 cm), filter paper에 편평하게 부착한 후 10% 중성 포르말린에 고정시킨 다음 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하여 4μm 절편을 잘라 H&E(hematoxylin & eosin) stain 및 Masson-Trichrome stain을 실시하였다.

통계처리

본 연구의 결과인 체중, 피부 두께 및 피부주형 결과에 대해 one-way ANOVA를 실시하고, Student t-test를 이용하여 대조군(UC군)과 실험물질투여군 간의 통계학적 유의성을 검정하였다 ($p<0.05$).

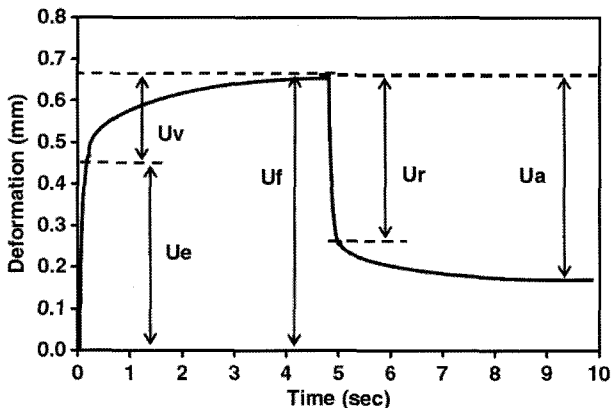


Fig. 1. Skin deformation curve obtained with Cutometer.
 Ue: immediate distention measured at 0.1 sec
 Uv: delayed distention
 Ur: immediate retraction
 Uf: first max. amplitude, highest point of the first curve, total deformation
 Ua: total recovery, final retraction

결과 및 고찰

임상증상 관찰 및 사망동물의 관찰

NC군을 포함한 모든 시험군에서 시험 기간 동안 사망한 동물은 관찰되지 않았으며, 전 동물에서 실험물질 투여로 인한 특이한 임상증상은 관찰되지 않았다(Table 2).

체중변화 관찰

UV를 이용한 주름 선유발 후 군분리 시 각 동물의 체중은 29.25±1.08-31.12±1.64 g으로 고른 체중범위를 나타내었다. 실험물질 투여기간 중 NC군, UV/P군, UV/H군에서 약간의 체중 감소가 있었으나, 이미 성체(16주령)에서 본 실험을 시작하였고, 경구투여와 UV조사에 따른 스트레스에 의해 체중 감소가 일어난 것으로 판단되며, 최종 체중범위는 28.49±2.63-31.34±2.53 g이었다. 전 시험기간 중 체중에 대한 통계적인($p<0.05$) 유의한 변화는 관찰할 수 없었다(Fig. 2).

사료섭취량 및 음수섭취량

시험 전 기간에 걸쳐 사료, 음수 소비량은 군별로 큰 차이를 보이지 않았다. 결과값에 대해 군당 하나의 값만 존재하므로 통계 검사를 실시하지 않았다(Fig. 3).

Replica 영상분석

UV 조사 기간 중, 육안으로 관찰 시 NC군에 비해 UC군의 피부 주름 증가가 뚜렷하였으며, 실험물질 투여군은 UC군에 비해 주름 증가가 적고, 피부 주름 상태가 양호하였다(Fig. 4). 주름 정

Table 2. Clinical signs and death rate in hairless mouse orally treated with test materials

Group	Sex	Animal No.	Clinical signs	Mortality (%) ²⁾
NC	Female	NF1-8	NAD ¹⁾	0
UC	Female	UF1-8	NAD	0
UV/H	Female	HF1-8	NAD	0
UV/P	Female	PF1-8	NAD	0

¹⁾No abnormalities detected
²⁾No. of dead/No. of treated animals

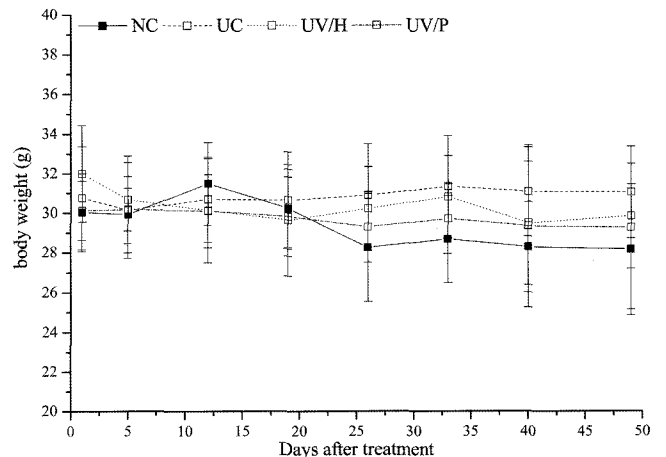


Fig. 2. Body weights in hairless mouse orally treated with test materials. Each point represents the mean±S.D. (n=8).

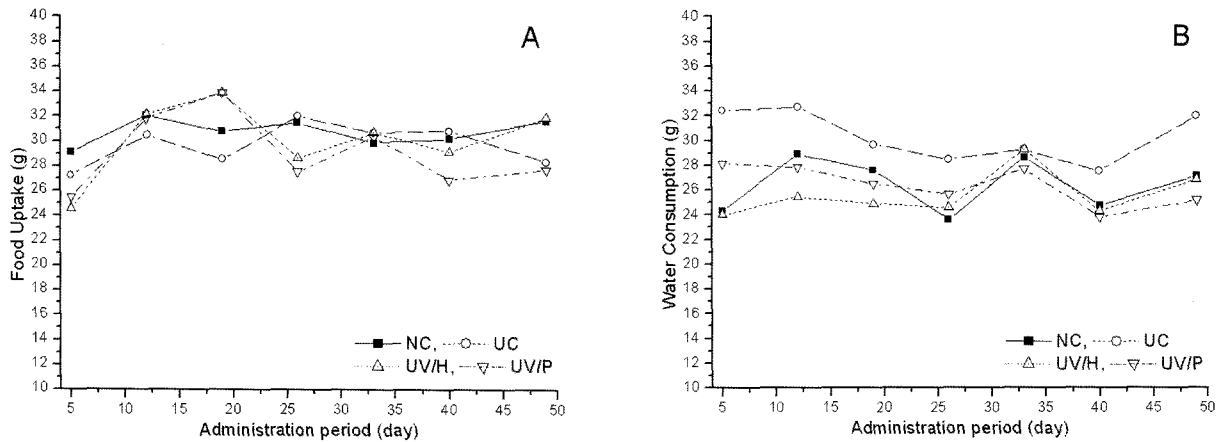


Fig. 3. Daily mean food uptake (A) and water consumption (B) in hairless mouse orally treated with test materials (n=8).

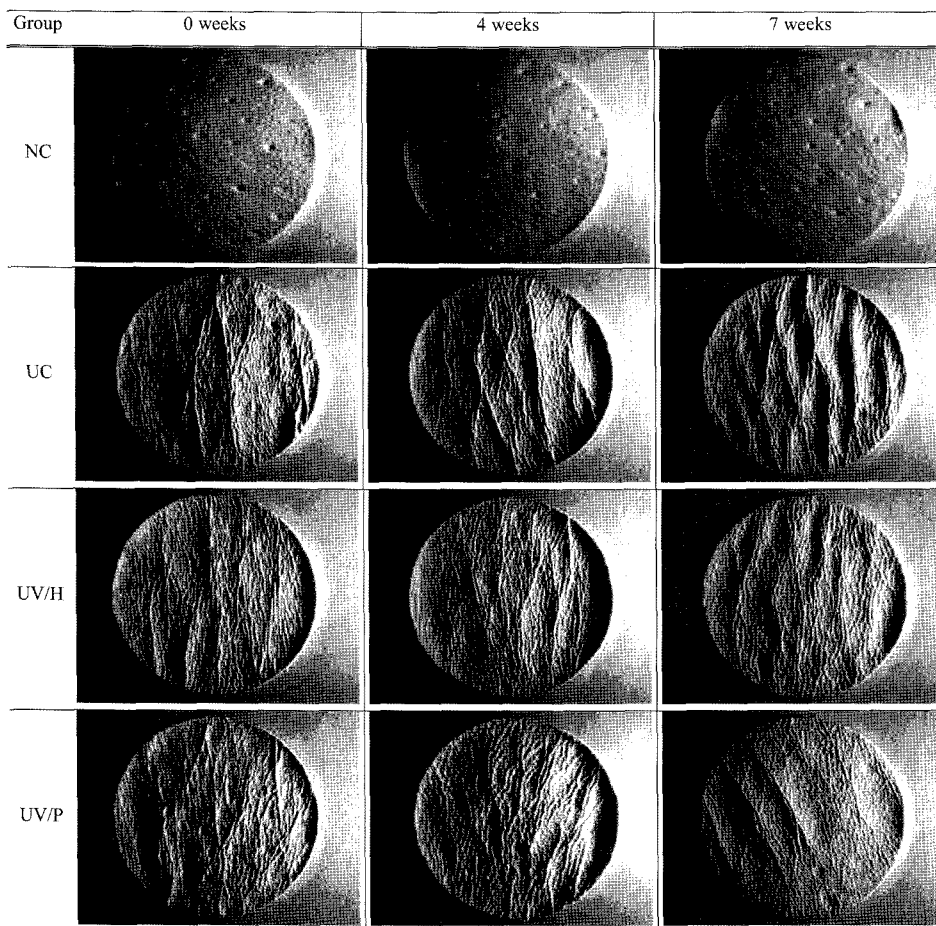


Fig. 4. Features of dorsal skin of hairless mice at the end of the irradiation period (0, 4, and 7 weeks).

도를 객관적으로 비교하기 위하여, 본 시험 시작 전(0주), 4주 및 7주에 제작된 replica에 대해 image analyzer 분석을 실시하였다. 각 주별로 구간 주름변화를 skin visiometer 600을 이용하여 피부 주형을 분석하고 군별 주름 정도를 나타내는 지표(R1-R5)들의 분석치를 통계처리 하였다(Fig. 5). UV/H군과 UV/P군은 UC군에 비해 전체적으로 주름의 감소 경향은 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

피부의 탄력 측정

Ua/Uf, Ur/Ue, Ur/Uf 지표는 1에 가까울수록, Uv/Ue 지표는 0에 가까울수록 피부의 탄력성이 높다는 것을 의미한다. 0주차 및 7주차에 진행된 탄력 측정 검사 결과 UV를 쬐지 않은 NC군은 UC군에 비해 0주차 Ua/Uf, Ur/Ue, Ur/Uf 지표가 유의적으로 큰 상태에서 실험이 진행되었으며, 7주차까지도 같은 양상을 보여, 탄력성이 높은 것으로 나타났다. UV/H군과 UV/P군은 0, 7주차 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 3).

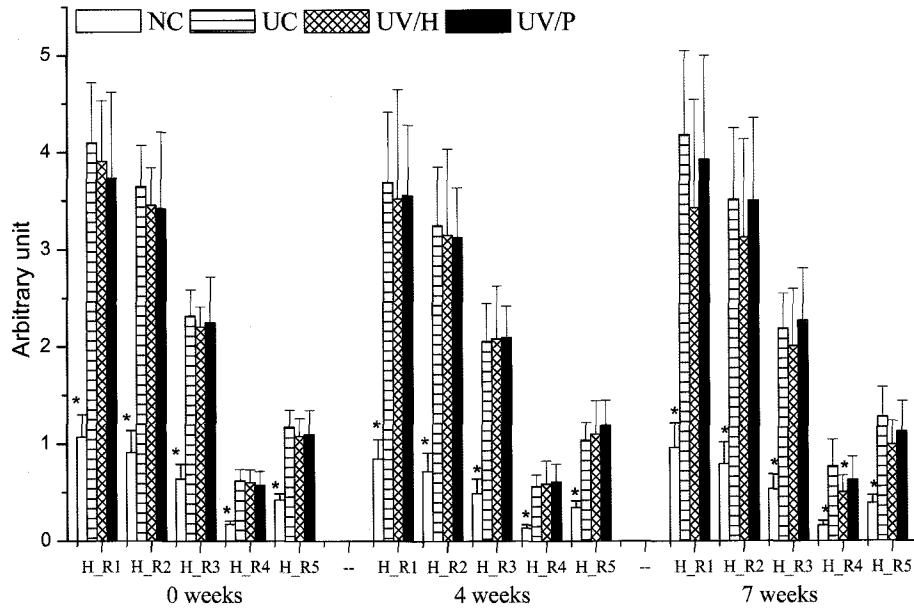


Fig. 5. Evaluation of micro-relief of UV-damaged skin in hairless mouse and age-matched un-irradiated mouse at 0, 4, 7 weeks. Results are expressed as mean values + S.D. for parameters R1-R5 (um). *, significantly different from UC group (P<0.05). H: horizontal, R1: distance between the highest mountain and the lowest value, R3: average of the five maximum distances, R1, R2: biggest value of those five maximum distances, R4: smoothness depth, R5: arithmetic average roughness

Table 3. Skin elasticity of female hairless mouse orally treated with test materials

Group		0 week				7 weeks			
		Ua/Uf	Ur/Ue	Uv/Ue	Ur/Uf	Ua/Uf	Ur/Ue	Uv/Ue	Ur/Uf
NC	Mean	0.92213*	0.98697*	0.43959	0.67756*	0.93061*	1.17234*	0.61276	0.72874*
	S.D.	0.08430	0.29401	0.11948	0.14270	0.03403	0.04312	0.09382	0.04535
UC	Mean	0.80885	0.64337	0.45329	0.45171	0.82164	0.94763	0.54266	0.61824
	S.D.	0.03312	0.11090	0.06829	0.07005	0.11351	0.15795	0.08636	0.11817
UV/H	Mean	0.80807	0.67167	0.45483	0.46134	0.81820	0.92453	0.52679	0.60801
	S.D.	0.09778	0.21209	0.10841	0.14387	0.08462	0.09207	0.06545	0.08033
UV/P	Mean	0.78639	0.74243	0.51723	0.47777	0.73595	0.84715	0.60753	0.52408
	S.D.	0.04138	0.08242	0.02137	0.05343	0.12507	0.14543	0.06357	0.08108

*, Significantly different from UC group (P<0.05).

Skin elasticity is expressed as the physical variables Ua/Uf (Portion between the max. amplitude and the ability of reformation of the skin), Ur/Ue (Net elasticity), Uv/Ue (Portion of the visco-elasticity on the elastic part of the curve) and Ur/Uf (ortion of the elasticity compared to the complete curve) which are measured with a Cutometer. These measurements were carried out 0 week and 7 week after treatment with test materials. [n=8]

피부의 경피 수분 손실량(TEWL: transepidermal water loss) 측정

7주차에 진행된 피부 보습력 측정 결과, UC군에 비해 NC군과 UV/H군, UV/P군 모두 유의적으로 TEWL 수치가 낮게 나와 경피 수분 손실량이 적다는 것을 알 수 있었다(Table 4).

피부조직의 병리학적 관찰

NC군, UV/H군, UV/P군은 UC군에 비해 피부 두께가 유의적으로 감소하였다(Table 4). 진피층에서의 교원질 확인을 위한 Masson-Trichrome stain의 경우 UC군에서는 상부 진피층에서의 염색상 소실이 관찰되었으나, UC군 이외의 모든 실험군에서 진피층 손상이 거의 관찰되지 않아 실험물질에 의한 회복을 확인할 수 있었다(Fig. 6).

Table 4. TEWL and epidermal thickness of hairless mouse orally treated with test materials

Group		TEWL	Epidermal thickness
NC	Mean	10.27*	15.4*
	S.D.	2.06	2.86
UC	Mean	18.60	32.2
	S.D.	1.35	5.68
UV/H	Mean	15.28*	28.6*
	S.D.	2.37	5.63
UV/P	Mean	15.78*	24.8*
	S.D.	2.96	3.31

*, significantly different from UC group (P<0.05).

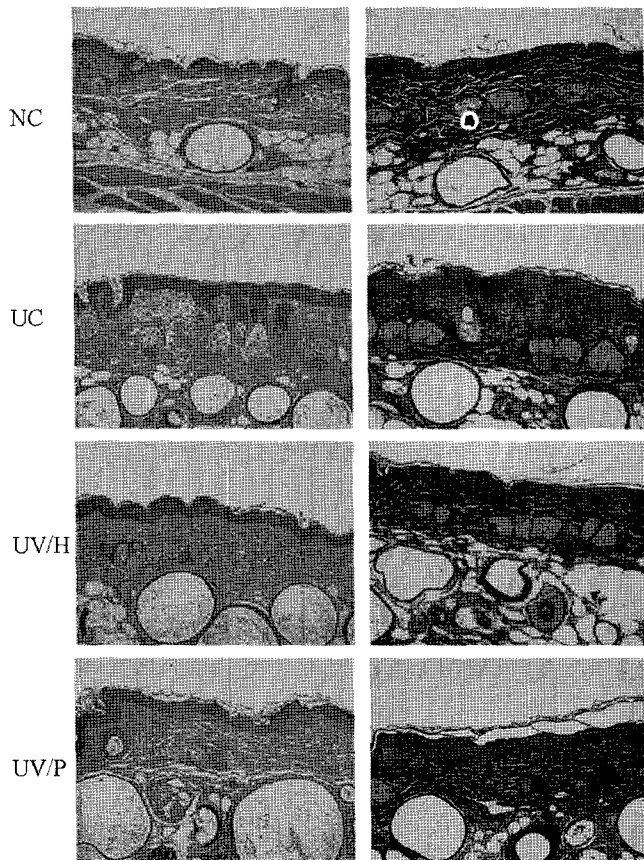


Fig. 6. Section of hairless mouse dorsal skin exposed to chronic UV irradiation was stained with H&E (left) and Masson-trichrome (right). Epidermis of Group NC, UV/H, and UV/P was significantly thinner than Group UC. Note fainter stainability of superficial dermis by Masson-trichrome dye in Group UC. $\times 40$.

부검소견

실험 종료 후의 부검 시 모든 개체에서 본 실험물질에 의한 것이라고 인정되는 어떠한 유의한 병변도 관찰되지 않았다.

결과의 판정

이상의 실험 결과 hydroxyproline, Pro-Hyp의 경구 반복 투여시 자외선에 의해 광노화가 유발된 피부에 보습 효과, 피부 두께 감소 효과, 진피층 손상 회복 효과를 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구를 통하여 피부 미용 소재로 알려져 있는 콜라겐 펩타이드를 섭취한 후 혈중에 나타나는 소화분해산물 중 콜라겐 특유의 아미노산인 hydroxyproline과 이것의 dipeptide 형태인 Pro-Hyp 이 피부에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 피부 미용 소재를 경구 섭취하는 사람의 피부는 광노화 및 자연노화가 어느 정도 진행된 상태이므로, 이와 유사한 조건을 조성하기 위해 경구 투여를 시작하기 전에 hairless mouse에 7주간 주 3회 UV를 조사하여 주름을 선유발시켰다. 군 분리를 시킨 후 7주간 경구로 실험물질을 주 5회 반복 투여하면서, 주 3회 UV 조사를 병행하였으며, 시험 기간 중 임상증상, 체중변화를 관찰하였고, 3회(0, 4, 7주차) 피부주형을 채취하여 영상 분석을 실시하였으며, 2회(0, 7주차)의 피부탄력측정 및 1회(7주차)의 TEWL측정을 병행하였

다. 실험종료 후 피부조직의 병리조직학적 검사(H&E, Masson-Trichrome stain) 및 피부두께 측정을 실시하였다.

실험기간 중 이상 임상증상을 보이거나 사망한 개체는 없었으며, 체중에 대한 통계적으로 유의한 변화는 관찰할 수 없었다. 피부 육안관찰 시 NC군에 비해 UC군의 피부 주름 증가가 뚜렷하였으며, 시험군들은 UC군에 비해 주름 증가가 적었다. 경구 투여 0, 4, 7주차에 제작된 replica의 주름 지표를 통계 처리한 결과, UV/H군과 UV/P군은 UC군에 비해 감소경향은 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 탄력측정검사 결과 UV를 쬐지 않은 NC군은 UC군에 비해 UA/UF, Ur/Uc, Ur/Uf 지표에서 유의적인 증가를 보였다. UV/H군과 UV/P군은 모두 0, 7주차 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다. 피부 보습력 측정 결과 NC군 및 모든 실험군에서 UC군에 비해 유의적인 TEWL 감소를 관찰할 수 있었다. 피부 두께의 경우 NC군, UV/H군, UV/P군은 UC군에 비해 피부 두께가 유의적으로 감소하였다. 진피층에서의 교원질 확인을 위해 실시한 Masson-Trichrome stain의 경우 UC군에서는 상부 진피층에서의 염색상 소실이 관찰되었으나, 모든 실험군에서 진피층 손상이 거의 관찰되지 않아 실험물질에 의한 회복을 확인할 수 있었다.

이상의 실험 결과 hydroxyproline, Pro-Hyp의 경구반복투여시 자외선에 의해 광노화가 유발된 피부에 보습 효과, 피부 두께 감소 효과, 진피층 손상 회복 효과를 유의적으로 확인할 수 있었으며, 단, 피부 주름 개선 정도는 통계적 유의성은 없이 경향성만을 확인할 수 있었다.

Hydroxyproline과 이를 함유하는 dipeptide 형태의 Pro-Hyp를 경구 투여한 시험으로부터 확인한 피부 보습 및 진피층 회복 효과는 이 물질들이 유래된 콜라겐을 도포 또는 섭취했을 때 피부에 나타날 수 있는 작용들과 상통하며, 단독 미용 소재로도 활용될 수 있는 가능성을 보여주었다. 본 연구에서는 콜라겐 펩타이드를 섭취 시 체내에 흡수되어 혈액을 통해 각 조직에 운반되는 분해산물이 피부에 미치는 영향을 동물 시험을 통해 살펴보았는데, 향후 연구에서는 관절, 혈관과 같은 다른 생체 조직들에 미치는 영향에 대해서도 검증해 볼 필요가 있다.

문 헌

1. Moskowitz RW. Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. *Semin. Arthritis Rheu.* 30: 87-99 (2000)
2. Oesser S, Adam M, Babel W, Seifert, J. Oral administration of (14)C labeled gelatin hydrolysate leads to an accumulation of radioactivity in cartilage of mice (C57/BL). *J. Nutr.* 129: 1891-1895 (1999)
3. Wu J, Fujioka M, Sugimoto K, Mu G, Ishimi Y. Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats. *J. Bone Miner. Metab.* 22: 547-553 (2004)
4. Iwai K, Hasegawa T, Taguchi Y, Morimatsu F, Sato K, Nakamura Y, Higashi A, Kido Y, Nakabo Y, Ohtsuki K. Identification of food-derived collagen peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates. *J. Agr. Food Chem.* 53: 6531-6536 (2005)
5. Ohara H, Matsumoto H, Ito K, Iwai K, Sato K. Comparison of quantity and structure of hydroxyproline-containing peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates from different sources. *J. Agr. Food Chem.* 55: 1532-1545 (2007)
6. Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 55: 1531-1546 (2003)
7. Uitto J, Olsen DR, FAzio MJ. Extracellular matrix of the skin: 50 years progress. *J. Invest. Dermatol.* 92: 61-77 (1989)
8. Choi HC, Oh CH. Evaluation of skin furrows in the ageing process using an image analysis system. *Korean J. Dermatol.* 35: 292-302 (1997)
9. Postlethwaite AE, Seyer JM, Kang AH. Chemotactic attraction of

- human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen-derived peptides. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 871-875 (1978)
10. Laskin DL, Kimura T, Sakakibara S, Riley DJ, Berg RA. Chemotactic activity of collagen-like polypeptides for human peripheral blood neutrophils. *J. Leukocyte Biol.* 39: 255-266 (1986)
 11. Postlethwaite AE, Kang A. Collagen and collagen peptide-induced chemotaxis of human blood monocytes. *J. Exp. Med.* 143: 1299-1307 (1976)
 12. Kim SK, Byun HG, Park PJ, Shahidi F. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *J. Agr. Food Chem.* 49: 2992-2997 (2001)
 13. Bisset DL, Hannon DP, Orr TV. An animal model of solar-aged skin: histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochem. Photobiol.* 46: 367-378 (1987)
 14. Hiroaki M, Ichiro K, Tomomi S, Toshio I. Prevention of the photo-damage in the hairless mouse dorsal skin by kojic acid as an iron chelator. *Eur. J. Pharmacol.* 411: 169-174 (2001)
 15. Nishimori Y, Edwards C, Pearse A, Matsumoto K, Kawai M, Marks R. Degenerative alterations of dermal collagen fiber bundles in photo-damaged human skin and UV-irradiated hairless mouse skin: Possible effect on decreasing skin mechanical properties and appearance of wrinkles. *J. Invest. Dermatol.* 117: 1458-1463 (2001)
 16. Kim SY, Kim SJ, Lee JY, Kim WG, Park WS, Sim YC, Lee SJ. Protective effects of dietary soy isoflavones against UV-induced skin aging in hairless mouse model. *J. Am. Coll. Nutr.* 23: 157-162 (2004)
 17. Kim SY, Ahn DK, Park SK, Lee JY, Kim WG, Sim YC, Lee SJ. Protective effects of jaummi-dan (ciyinmei-dan) against skin photoaging in hairless mouse model and UVB-induced damage in human fibroblast. *J. Korean Oriental Med.* 23: 43-53 (2002)
 18. Lee JH, Lee BS, Byun BS, Kim WG, Lee SJ, Sim YC, Kim BH. Effect of APB-01 on the ultraviolet-induced photoaging and wrinkle formation in the hairless mice. *J. Toxicol. Pub. Health* 19: 303-310 (2003)
 19. Lee JH, Lee BS, Yang MS, Byun BS, Kim WG, Kim BH, Lee SJ. Prevention of photoaging and wrinkle formation in hairless mice dorsal skin by APB-03. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 989-996 (2005)
 20. Dobrev H. *In vivo* study of skin mechanical properties in Raynaud's phenomenon. *Skin Res. and Technol.* 13: 91-94 (2007)
 21. Dobrev H. A study of human skin mechanical properties by means of cutometer. *Folia Medica* 44: 5-10 (2002)
 22. Takema Y, Imokawa G. The effects of UVA and UVB irradiation on the viscoelastic properties of hairless mouse skin *in vivo*. *Dermatology* 196: 397-400 (1998)
 23. De Paepe K, Houben E, Adam R, Wiesemann F, Rogiers V. Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameter. *Skin Res. Technol.* 11: 61-69 (2005)
 24. Fluhr JW, Feingold KR, Elias PM. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: Validation in human and rodent *in vivo* and *ex vivo* models. *Exp. Dermatol.* 15: 483-492 (2006)
 25. Jiang SJ, Chen JY, Lu ZF, Yao J, Che DF, Zhou XJ. Biophysical and morphological changes in the stratum corneum lipids induced by UVB irradiation. *J. Dermatol. Sci.* 44: 29-36 (2006)